

**Untersuchungen zur Proliferationsaktivität
bestrahlter und nicht bestrahlter Nierenkarzinome
durch ^3H -Thymidin-Autoradiographie in vitro**

Helga Donhauser

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER UROLOGISCHEN KLINIK UND POLIKLINIK DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr.E. Schmiedt

Untersuchungen zur Proliferationsaktivität bestrahlter
und nicht bestrahlter Nierenkarzinome durch
³H-Thymidin-Autoradiographie in vitro

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt

und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt

von

Helga Donhauser

aus

Schwandorf

1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.E. Schmiedt

Dekan: Prof.Dr.W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Oktober 1975



Meinen Eltern
und Susanna

Inhaltsverzeichnis

=====

	Seite
A. EINLEITUNG	1 - 5
B. FRAGESTELLUNG	6
C. AUTORADIOGRAPHIE	7 - 16
D. MATERIAL UND METHODE	17 - 21
E. AUTORADIOGRAPHISCHE ERGEBNISSE	22 - 39
1. Proliferationsaktivität bei verschie- denen Bestrahlungsdosen	25 - 30
2. Markierungsindex im Hinblick auf Tumorbezirk	30 - 33
3. Markierungsindex in Abhängigkeit von der klinischen Symptomatik	33 - 35
4. Markierungsindex im Vergleich zu dem histologisch bestimmten Differenzie- rungsgrad	36 - 39
F. DISKUSSION	40 - 45
G. ZUSAMMENFASSUNG	46 - 47
H. LITERATURVERZEICHNIS	48 - 55

A. E I N L E I T U N G

Nach den Untersuchungen von SCHMITZ (1967, 39) sterben in der Bundesrepublik jährlich etwa 1200 Menschen an bösartigen Nierentumoren. Nach HALLWACHS, BEDUHN und HARBST (1969, 19) sind 90 % aller Nierentumoren maligne. Auch BRÜHL, SCHEEF, ALBERT und BÜCHELER (1974, 8) bestätigen, daß etwa drei Viertel aller Nierengeschwülste Karzinome sind. Über das chirurgische Angehen dieses Karzinoms herrscht Einigkeit. Der operative Eingriff besteht aus der Tumornephrektomie möglichst unter Mitentfernung der regionären, auch kontralateralen Lymphknoten bis zur Aortenbifurkation. Obgleich die Nephrektomie für Patienten mit Adenokarzinom der Niere die Therapie der Wahl darstellt, kann die Operation in 50 % aller Fälle den Tod innerhalb von 5 Jahren nicht verhindern (BLOOM, 1973, 4). Daher sucht man nach einer ergänzenden Therapie. Der Einsatz von Zytostatika war bei diesen Karzinomen leider nicht erfolgreich. Hormontherapie und Immuntherapie brachten ebenfalls nicht den gewünschten Erfolg. Als ergänzende Maßnahme zur Operation wird allerdings die Bestrahlung des hypernephroiden Karzinoms von vielen Fachleuten befürwortet. Die Einfüh-

rung der Megavolttherapie in die Strahlenbehandlung der tief im Körperinneren gelegenen Tumoren schafft die Möglichkeit, solche Geschwülste mit ausreichender Dosis unter gleichzeitiger Schonung gesunden Gewebes zu bestrahlen (SCHMIEDT, 1971, 38). Dies betrifft besonders die häufig ausgedehnten Geschwülste der Niere, da nach BRATHERTON (1964, 6) das zu bestrahlende Herdgebiet das ganze Nierenlager mit dem Tumor und auch die paraaortalen und parakavalen Lymphabflußgebiete erfassen soll. HEINZE und SCHWÄRZLER (1971, 20) weisen ebenso wie GERHARDT (1966, 18) und KUTTIG (1968, 28) darauf hin, daß durch den Einsatz der Megavoltstrahlentherapie die Behandlungsergebnisse der Nierengeschwülste verbessert werden konnten.

Dagegen ist man sich weitgehend uneins über die Dosis, Fraktionierung und Intervall der Radiotherapie. Vor allem kommt es immer wieder zu Diskussionen über die präoperative Strahlentherapie. GAUWERKY (1973, 16) stellte fest, daß sich bei den von 1961 - 1966 prä- und postoperativ bestrahlten Patienten keine lokalen und regionalen Rezidive gebildet haben. RICHES (1964, 35), der seit 1963 die präoperative Bestrahlung der

hypernephroiden Karzinome durchführt, berichtet über überraschend gute Einzelergebnisse. Wie aber sollte man die Vorbestrahlung handhaben?

ZUPPINGER (1971, 43) schlug zwei Vorbestrahlungsformen vor: die langzeitige Vorbestrahlung, d.h. eine hohe Dosis mit einem Intervall von 4 - 8 Wochen, anzuwenden bei primär inoperablen Tumoren und Grenzfällen. Ihr entgegen setzt er die kurzzeitige Vorbestrahlung bei operablen Tumoren mit niedriger Dosis und kurzem Intervall. Bei der kurzzeitigen Vorbestrahlung unterscheidet er zwei Möglichkeiten, die sogenannte "Schlagbestrahlung" nach HUG (1964, 23) mit einheitlich niedriger Dosis von ca. 1500 rd in einigen Tagen und sofortigem Eingriff und als zweite Möglichkeit mit Gesamtdosen von 3000 R und Radikaloperation nach 3 - 5 Tagen. KROKOWSKI (1971, 27) unterscheidet drei Arten der Vorbestrahlung:

Die "konventionelle Technik", bei der täglich fraktioniert bis zu einer Gesamtdosis von 2000 - 6000 R bestrahlt wird. Das Intervall bis zur Operation beträgt je nach applizierter Dosis 2 - 3 Wochen oder 2 - 3 Monate. Sein zweiter Vorschlag geht auf das Prinzip von HUG ein, d.h. eine Reduktion der Fraktionierung und ein extrem kurzes Intervall bis zur Operation.

Empfohlen werden Gesamtdosen zwischen 1000 - 1500 R. Ferner wies KROKOWSKI noch auf die Ganzkörperbestrahlung hin, die aber umfassender Prüfungen vor ihrer Anwendung bedarf und deshalb kaum üblich ist. BROSIG, BAUMGÄRTEL und OESER (1971, 7) berichten über günstige Erfahrungen mit der konventionellen Vorbestrahlung bei Nierentumoren. Dennoch wird trotz verschiedener Erfolge der therapeutische Effekt dieser klassischen Form der Langzeitvorbestrahlung von vielen Seiten angezweifelt. Daneben steht heute fest, daß das Operationsrisiko mit diesen Dosen weiter erhöht wird.

Es ist daher das hervorragende Ziel jeder Vorbestrahlung, die Gefahr von lokalen Rezidiven und Fernmetastasen während der Operation so weit wie möglich herabzusetzen, indem lebende Zellen, die durch die intraoperative Manipulation freigesetzt werden können, vorher devitalisiert werden. Die klinischen Erfahrungen mit der Kurzzeitbestrahlung sind noch spärlich.

HUG (1971, 24) weist auf Erfolgsberichte beim Ösophaguskarzinom und bei Tumoren der Mundhöhle hin. LEAMING et al. (1961, 31) berichten über geringe Verbesserungen beim Rectumkarzinom. Erfolglos waren BERGSTRÖM und LINDGREN (1962, 3) mit der Kurzzeitvorbestrahlung

beim Mammakarzinom. Außerdem gibt es Autoren, die den Wert der Radiotherapie gerade beim Adenokarzinom der Niere ablehnen. So berichtet z.B. FINNEY (1973, 12) über 100 Patienten, von denen 49 nur operiert und 51 nachbestrahlt wurden. Seine Ergebnisse zeigten, daß die einfache Überlebensrate bei alleiniger Operation spürbar größer ist als mit zusätzlicher Nachbestrahlung.

FLOCKS und KADESKY (1958, 15) sprechen bereits 1958 davon, daß die Kombination - Bestrahlung und Operation - bessere Ergebnisse erbrachte als die alleinige Operation. COX, LACY, MONTGOMERY und BOYCE (1970, 9) beobachteten die 5-Jahres- und die 10-Jahres-Überlebensraten von nephrektomierten Patienten teils mit, teils ohne Bestrahlung und stellten fest, daß die Überlebensraten bei den Bestrahlten wesentlich höher waren.

B. F R A G E S T E L L U N G

Die klinischen Erfahrungen mit Bestrahlungen von Nierentumoren sind deswegen noch so gering, weil frühestens nach Ablauf von 5 Jahren Aussagen über den Erfolg oder Mißerfolg einer Tumorthherapie möglich werden und weil beim Adenokarzinom der Niere die Vergleichsmöglichkeit der Ergebnisse anderer Kliniken schwierig ist. Diese Einschränkung liegt sowohl an der unterschiedlichen Art der Vorbehandlung als auch an den unterschiedlichen Operationstechniken. So sind Angaben in Statistiken über das Tumorstadium der Nierenkarzinome nicht vergleichbar. Daraus entsteht die Notwendigkeit, andere Methoden zur Objektivierung und Überprüfung verschiedener strahlentherapeutischer Verfahren zu suchen.

Aus dieser Überlegung heraus wurde versucht die Ergebnisse einer Radiotherapie schon vor Erreichen des 5-Jahres-Überlebenszeitraumes zu untersuchen, wobei diese Methode von den verschiedenen Operationstechniken unabhängig sein sollte. Hierfür bot sich die Bestimmung der Proliferationsaktivität des bestrahlten im Vergleich zu nicht bestrahltem Tumorgewebe an.

C. A U T O R A D I O G R A P H I E

Es sind im wesentlichen drei Entdeckungen, die das quantitative Studium der Zellproliferation eingeleitet haben. Die erste Entdeckung ist die Autoradiographie der Einzelzelle, die durch LACASSAGNE (1924, 29) beschrieben wurde und im letzten Jahrzehnt erhebliche technische Verbesserungen erfahren hat. Die ersten wissenschaftlichen Beiträge zur Technik der Autoradiographie kamen bereits 1867 von NIEPCE DE ST. VICTOR und von HENRY BECQUEREL. Es wurde berichtet, daß eine Emulsion von Silberchlorid und -jodid schwarz gefärbt wurde, wenn man es Uraniumnitrat und -tartrat aussetzte. Die Schwarzfärbung erfolgte sogar, wenn man die Emulsion und das Uraniumsalz durch ein dünnes Glas trennte. LACASSAGNE und LATTES (1924, 29) erwähnen 1912 einen Versuch mit Actinium X. 1922 entstanden die ersten Berichte über Autoradiographie am Menschen. Die Technik der Autoradiographie wurde dann eingehend beschrieben von GROSS und LEBLOND (1947, 17), FITZGERALD und ENGSTROM (1952, 13), BOYD (1955, 5) und ROGERS (1967, 36).

Der zweite wichtige Schritt ist die Skizzierung des Zellzyklus durch HOWARD und PELC (1957, 22) im Jahre 1951. Ein Generations- oder Zellzyklus läßt sich bei proliferierenden Zellen nachweisen und kann in verschiedene Phasen eingeteilt werden, da einerseits die Mitose morphologisch erkennbar ist und die Reduplikation der Desoxyribonukleinsäure (DNS) der Zelle in einem begrenzten Zeitraum abläuft (HOWARD, PELC, 1957, 22). Es läßt sich eine s.g. präsynthetische Zellzyklusphase G_1 , die DNS-Synthesephase S, die prämitotische Phase G_2 und die Mitosephase M in zeitlicher Folge definieren (siehe Abb. 1).

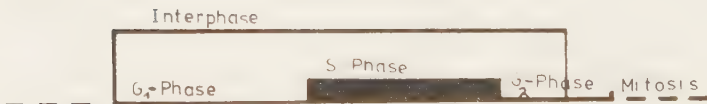


Abb. 1 : (nach FEINENDEGEN 1971, 11)

Als weiterer wesentlicher Schritt kam dann die Einführung von Tritium in die Autoradiographie durch FITZGERALD et al. (1951, 14). Die Nutzung des Thymidins und seine Markierung mit Tritium, dem radioaktiven Isotop des Wasserstoffs, eignet sich als reiner weicher Beta-Strahler besonders gut. Diese letztere Entwicklung begann 1957 gleichzeitig in Belgien durch VERLY (1957, 42) und in den USA im Brookhaven National Laboratory (TAYLOR 1957, 41). Die autoradiographischen Versuche wurden nicht nur mit tritiiertem Thymidin durchgeführt, sondern es wurden auch andere Stoffe mit Tritium markiert und verwendet, z.B. Uridin, Leucin, Lysin, Prolin, Arginin, Glucose, Glycerol, Cystein, um nur einige zu nennen (BASERGA, MALAMUD, 1969, 2). Ferner wurde auch die Markierung des Thymidins mit anderen Radioisotopen erprobt, wie mit ^{32}P , ^{14}C und anderen. Das gebräuchlichste Material, das benützt wird, um die DNS-Synthese in den Zellen autoradiographisch zu kennzeichnen, ist jedoch bei weitem ^3H -Thymidin.

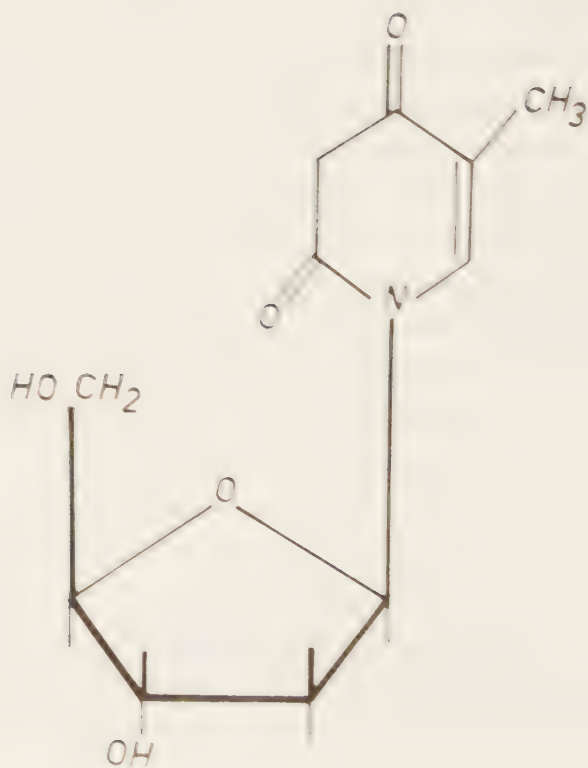


Abb. 11 Strukturformel des Oxazolins

In der G_1 -Phase laufen biochemische Prozesse ab, die eine Voraussetzung für die Verdoppelung des genetischen Materials der DNS in der S-Phase schaffen. Nur während der S-Phase wird die im Zellkern befindliche DNS verdoppelt und nur während dieser Zeit baut die Zelle den für die DNS spezifischen Baustein Thymidin ein (REICHARD, ESTEBORN, 1951, 34). Die Menge des in der Zeiteinheit in ein Gewebe oder eine Zellkultur eingebauten Thymidins und die Zahl der Zellen, die Thymidin inkorporieren, geben ein exaktes Maß für die Proliferationsaktivität einer Zellpopulation (BASERGA, 1965, 1). Durch die Wahl einer geeigneten radioaktiven Markierung des Thymidins können im Autoradiogramm die Zellen als markiert sichtbar gemacht werden, die sich zum Zeitpunkt des Angebots von markiertem Thymidin in der S-Phase befinden. Für die Dauer der DNS-Synthesephase können beliebig festgelegte Werte zwischen 7 - 16 Stunden angenommen werden (BASERGA, MALAMUD, 1969, 2; SCHULTZE, 1968, 40). Durch die Bestimmung des Zahlenverhältnisses zwischen autoradiographisch markierten und nicht markierten Zellen kann ein Markierungsindex für isoliertes Tumorgewebe bestimmt werden, der gewisse Rückschlüsse auf das Proliferationsverhalten der Tumorzellen in vivo erlaubt.

SZCEPANSKI, HUG und SPANGENBERG (1971, 37) verwandten die Methode der Autoradiographie, um die Strahlenwirkung auf transplantable Tiertumoren zu untersuchen. Es ist unter anderem möglich, mit Hilfe der Autoradiographie die Strahlendosen festzusetzen, die im Tierversuch nötig sind, um alle Tumorzellen zu töten oder die Proliferation so zu hemmen, daß ein Rezidiv des Primärtumors unterbleibt oder zumindest unter den kritischen Werten bleibt. Deshalb wurde das räumliche und zeitliche Muster der zellulären Proliferation und die Strahlenempfindlichkeit von Tiertumoren, nach ein- und mehrmaliger Röntgenbestrahlung mit verschiedenen Dosen, untersucht. Den tumortragenden Tieren wurde vor und zu verschiedenen Zeiten nach Bestrahlung ^3H -Thymidin zugeführt und anschließend histologische und autoradiographische Untersuchungen vorgenommen.

Die Untersuchungen wurden am Walker-Karzinom der Ratte, am Landschütz-Sarkom und am Sarkom 180 der weißen Maus sowie am Adenokarzinom der C_3H -Maus durchgeführt.

An dieser Stelle soll selektiv das Adenokarzinom der Maus, das in einer langen Transplantationskette eine regelmäßige azinöse Struktur bewahrte, untersucht werden.

Nach Zufuhr von ^3H -Thymidin konnten mit der Autoradiographie die proliferierenden Zonen des Tumors erfaßt werden. Deutlich ist sichtbar, daß die DNS-Synthese und die Zellteilung nur in einer schmalen Randzone der Acini stattfinden, während sich die Zellen des Läppchenzentrums in Teilungsrue befinden. Erst mehrere Tage nach Thymidinangebot beobachtet man markierte Zellen, die aus der Randstellung gegen die Zapfenmitte hin vorgewandert sind.

Die histologischen und autoradiographischen Untersuchungen, 3 Stunden bis 8 Tage nach einmaliger Röntgenbestrahlung mit 150 - 1200 R, zeigen akute Zellschäden innerhalb der ersten 24 Stunden nur in den teilungsaktiven Randzonen der Acini. Dagegen bleiben die Zellen des zentralen Läppchenbereichs auch bei hohen Dosen unverändert. Es wurde festgestellt, daß regenerative Prozesse bei niederen Dosen bereits nach 24 bis 36 Stunden wieder einsetzten, bei mittleren Dosen am 2. Tag und bei Dosen von etwa 1200 R am 4. Tag wieder lebhaft begannen.

Durch zweimalige Röntgenbestrahlung mit gleichgroßen aufeinanderfolgenden Einzeldosen wurde versucht, die für die Rückbildung des Tumors günstigen Zeitintervalle ausfindig zu machen. Man bestrahlte die Tumoren

- - -

zweimal in Intervallen von 24 Stunden bis zu 6 Tagen mit Einzeldosen von 150 - 1200 R. Anschließend markierte man die tierischen Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung mit ^3H -Thymidin. Die Wirksamkeit des Bestrahlungsschemas wurde am zeitlichen Verlauf der Tumorgewichte, der spezifischen und gesamten ^3H -Aktivität des Tumorgewebes im Flüssigkeitsszintillationsverfahren und im autoradiographischen Bild verfolgt.

Am günstigsten erwies sich eine zweimalige Bestrahlung mit 300 R mit einem 24 Stunden-Intervall. Ferner wurde festgestellt, daß bei Bestrahlung im 48-Stunden-Intervall die Wirkung der Zweitdosis weitgehend verpufft. Zusammenfassend ergaben sich folgende Ergebnisse:

- 1.) Eine einmalige Dosis von 2400 R bewirkt bei etwa 65 % der Tiertumoren eine völlige Rückbildung.
- 2.) Bei zweimal 1200 R steigert sich die Rückbildung auf etwa 85 %.
- 3.) Bei viermal 600 R (Intervall 2 Tage) ist die Regression am 9. Tag nach der Bestrahlung so weit fortgeschritten, daß bei keinem der 100 Tiere mehr ein Tumor zu tasten ist.

4.) Bei achtmal 300 R wird ebenfalls völlige Rückbildung des Tumors erreicht, jedoch ist die Erholung wesentlich schneller.

Aus Beobachtungen bei anderen genannten Tiertumoren geht hervor, daß eine zweimalige Applikation von 600 R am günstigsten ist.

Die Verwendung von tritiiertem Thymidin zur Autoradiographie wurde nicht nur bei Tiertumoren sondern auch bei verschiedenen Tumorgeweben des Menschen mit Erfolg angewandt. FAUL und RABES (1972/73, 10/33) untersuchten an zytologischem Prostatabiopsiematerial die Proliferationsaktivität in Abhängigkeit vom morphologischen Bild. KLEIN, LENNARTZ, EDER und GROSS (1970, 25) zeigten am Gewebe der Mamma, des Colons, des Rectums und der Schilddrüse des Menschen, daß eine Bestimmung der Zellproliferation in vitro eine Übereinstimmung mit in vivo erhaltenen Daten ergibt. Ebenso weisen KLEIN, LENNARTZ, GROSS, EDER und FISCHER (1972, 26) auf die Bedeutung der in vivo und in vitro Untersuchungen zur Zellkinetik für die zytostatische Tumorthherapie hin.

Die Vorteile, die diese klinischen Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen bieten, werden allerdings durch die lange biologische Halbwertszeit dieser radioaktiven "Marker" eingeschränkt und machen weitere Tierversuche und Versuche in vitro nötig.

D. MATERIAL UND METHODE

Bei dem von uns untersuchten Material handelte es sich um Gewebsstücke hypernephroider Karzinome. Die Gewebeproben wurden sofort postoperativ entnommen und in Nährmedium inkubiert. Es wurden dabei sowohl periphere Tumoranteile entnommen als auch zentrale und Anteile intrarenaler Metastasen.

15 Adenokarzinome der Niere wurden untersucht, von denen 6 kurzzeitig vorbestrahlt waren, 4 langfristig und 5 ohne Vorbestrahlung operiert worden waren. Klinische Angaben über die untersuchten Tumoren und über die vorausgegangene Therapie waren dem Untersucher zur Zeit der Auszählung unbekannt.

An unserer Klinik wurde in den letzten Jahren sowohl die Langzeitvorbestrahlung als auch die Kurzzeitvorbestrahlung durchgeführt. Der Patient erhält bei der Kurzzeitvorbestrahlung innerhalb von 2 Tagen in 4 Sitzungen eine Gesamtherddosis von 1500 - 2000 R. Die Nephrektomie erfolgt sofort anschließend (SCHMIEDT, HEINZE, 1971, 38). Bestrahlt wird mit dem Kobalt-60-Teletherapiegerät (Gammatron 1).

Nach einer dreiwöchigen Vorbestrahlung mit einer Herddosis von 3000 R und nach einer Behandlungspause von 3 Wochen wurden die nach der konventionellen Methode behandelten Patienten operiert.

Ein Teil der Patienten wurde ohne jegliche Vorbestrahlung operiert.

Das Ergebnis dieser Vorbestrahlungsarten sollte durch autoradiographische Untersuchungen festgestellt werden.

Die experimentellen Untersuchungen wurden in der Abteilung für experimentelle Pathologie (Prof.Dr.H. RABES) des Pathologischen Instituts der Universität München (Direktor: Prof.Dr.M. EDER) durchgeführt.

Die autoradiographischen Präparate, die uns für die Auswertung zur Verfügung gestellt wurden, waren auf folgende Weise hergestellt worden:

Unmittelbar postoperativ wurde aus den entsprechenden Nierentumoren Gewebe entnommen, auf einem Schneidegerät geschnitten und in einem synthetischen Nährmedium unter Zusatz von ^3H -Thymidin für 60 - 120 Minuten inkubiert. Das Nährmedium enthielt:

- 1.) 80 μ g TCM 199 (MORGAN, MORTON, PARKER, 1950),
- 2.) 20 % Serum, nach Möglichkeit vom Patienten,
- 3.) Streptomycin (100 μ g/ml),
- 4.) 10 μ Ci Thymidin-6- 3 H pro ml Medium (spezifische Aktivität 5 Ci/mMol, Radiochemical Centre Amersham, England).

Die Inkubation von Gewebspartikeln mit einer Kantenlänge von maximal 500 μ m erfolgte in 5 ml Medium in Petrischalen bei 37 ° C. Während der Inkubation wurden die Proben mit Carbogen begast.

Nach der Inkubation wurde Medium mit Gewebe in Zentrifugenröhrchen umpipettiert und 5 Minuten bei 1000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert. Danach erfolgte dreimaliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung und inaktivem Thymidin mit nochmaligen Zentrifugierungsschritten. Nach Abpipettieren der Waschlösung wurden die Gewebsstücke in 10 %igem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Von jedem Paraffinblock wurden 4 μ m dicke Schnitte hergestellt und auf Objektträger aufgezogen, die nach dem Entparaffinieren und nochmaligem Waschen in inaktiver Thymidinlösung für die Autoradiographie vorbereitet wurden. Hierzu wurden die Präparate in Chromalaungelatine getaucht, luftgetrocknet und mit Strippingfilm Kodak AR 10 in

der Dunkelkammer überzogen. Anschließend wurden die Objektträger, nach Trocknung, lichtdicht im Kühlschrank (4°C) gelagert. Nach einer Expositionszeit von 21 Tagen wurde der Film mit Amidol entwickelt (12 Min. bei 21°C), fixiert und gewässert. Schließlich wurden die Präparate luftgetrocknet und mit Hämalaun und Eosin durch den Film hindurchgefärbt.

Tritium emittiert beim Zerfall eine weiche Beta-Strahlung. Dadurch zeigen sich nach ausreichender Exposition des Filmes im Durchlichtmikroskop schwarz erscheinende Silberkörner über allen Zellen, in die ^3H -Thymidin während der Inkubation in vitro inkorporiert wurde (Abb. 2 und 3). Die Zahl der so markierten Tumorzellen entspricht weitgehend der Zahl, der auch in vivo während der Expositionszeit in DNS-Synthese befindlichen Zellen (HELPAP, MAURER, 1969, 21).

Von jedem Tumor wurden so 2 - 8 Präparate hergestellt. Von jedem Präparat wurden je 2000 Zellen, also 4000 - 16000 Zellen pro Patient, ausgezählt. Gezählt wurden nur die 5 Zellschichten der Randzone, da diese Zellen innerhalb der O_2 -Diffusionsstrecke bei 95 % O_2 ihren physiologischen Sauerstoffpartialdruck haben.

Der Markierungsindex wurde in Prozenten angegeben.
Von den Markierungsindices wurde das arithmetische
Mittel gebildet und zusätzlich die Standardabweichung
errechnet.

2. Ergebnisse

Die Methode der Auszählung und Auswertung soll nun am Beispiel eines einzelnen Patienten gezeigt werden.

Beispiel

Ausgangssituation

α = periphere Zone eines zentral stark nekrotischen zerfallenen Tumorteiles

β = isolierter oberflächlicher Tumorknoten

γ = Grenzgebiet der zentralen Nekrose des Primärtumors

δ = zentrale Nekrose

A_1 = 60 Minuten Inkubation

A_2 = 120 Minuten Inkubation

	ausgezählte Zellen	markierte Zellen	unmarkierte Zellen	Markie- rungs- index (%)
A ₁ α	2000	10	1990	0,5
A ₁ β	2000	15	1985	0,75
A ₁ γ	2000	14	1986	0,7
A ₁ δ	Nekrose	-	-	-
A ₂ α	2000	9	1991	0,45
A ₂ β	2000	10	1990	0,5
A ₂ γ	2000	5	1995	0,25
A ₂ δ	2000	6	1994	0,3

Folgende Abbildungen (Abb. 3 und 4) sollen nun verschieden markierte Tumorbezirke zeigen.

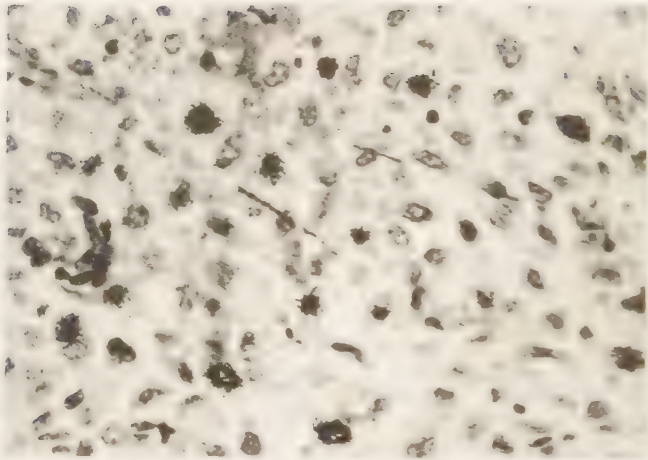


Abb. 3: Tumorbereich mit hohem Markierungsindex

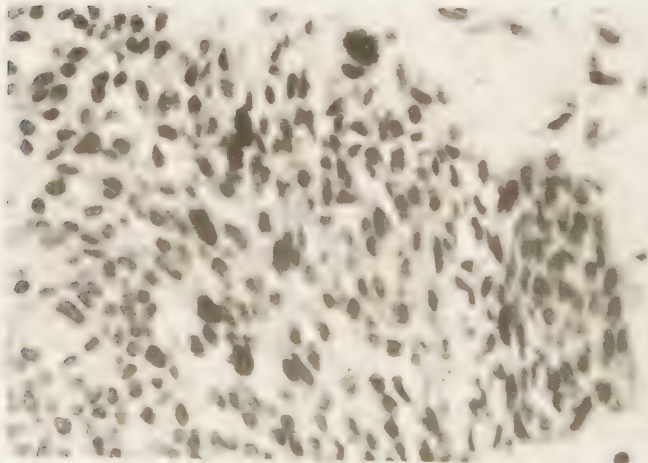


Abb. 4: Tumorbereich mit niedrigem Markierungsindex

Nach unseren Untersuchungen ergab der mittlere Markierungsindex für die kurzzeitig vorbestrahlten Patienten Werte von 0,030 - 0,587. Im Mittel ergab sich daraus ein Gesamtmarkierungsindex von $0,311 \pm 0,238$ (Tab. 1).

Patient	Alter	Mittlerer Markierungsindex	Anzahl der Proben
G.B. männlich	02.05.02	$0,030 \pm 0,028$	2
J.A. "	25.02.18	$0,587 \pm 0,403$	4
G.M. "	16.12.12	$0,525 \pm 0,389$	2
M.F. "	08.12.19	$0,264 \pm 0,165$	7
K.R. "	01.01.08	$0,150 \pm 0,023$	4
J.H. weiblich	17.03.00	nekrotisches Gewebe nicht auswertbar	-

Tab. 1: Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex der 6 kurzzeitig vorbestrahlten Patienten bei Kurzinkubation von Nierenkarzinomgewebe mit Angabe der Standardabweichung. Die Standardabweichung wurde aus den verschiedenen Anzahlen der Proben berechnet.

Für die 4 langzeitig vorbestrahlten
 Patienten konnten wir Markierungsindices von 0,493 - 1,050
 errechnen. Im Mittel ergab sich daraus ein Gesamtmarkie-
 rungsindex von $0,660 \pm 0,312$ (Tab. 2).
 =====

Patient	Alter	Mittlerer Mar- kierungsindex	Anzahl der Proben
C.F. männlich	21.02.37	$0,550 \pm 0,108$	4
E.B. "	06.02.15	$0,550 \pm 0,283$	2
A.S. "	30.01.18	$0,493 \pm 0,185$	7
E.W. weiblich	20.01.99	$1,050 \pm 0,564$	8

Tab. 2: Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex der 4 lang-
 zeitig vorbestrahlten Patienten bei Kurzinkubation
 von Nierenkarzinomgewebe mit Angabe der Standard-
 abweichung.

Die mittleren Markierungsindices der o h n e V o r -
b e s t r a h l u n g operierten Patienten betrugen
Werte von 0,687 - 3,8. Im Mittel ergab sich daraus ein
Gesamtmarkierungsindex von $1,819 \pm 1,169$ (Tab. 3).
=====

Patient	Alter	Mittlerer Mar- kierungsindex	Anzahl der Proben
A.B. männlich	unbekannt	$1,517 \pm 0,382$	3
M.H. "	01.07.18	3,8 (Einzel- wert, alle an- deren Präpara- te nekrotisch	1
G.E. "	15.12.08	$1,457 \pm 0,318$	2
A.H. weiblich	02.12.20	$0,687 \pm 0,256$	4
M.S. "	19.08.08	$1,517 \pm 0,493$	3

Tab. 3: Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex der 5 ohne
Vorbestrahlung operierten Patienten bei Kurzinku-
bation von Nierenkarzinomgewebe mit Angabe der
Standardabweichung.

In Tab. 4 soll nun noch einmal ein Überblick über die Gesamtmarkierungsindices der verschieden vorbestrahlten Tumoren gegeben werden.

	ohne Vorbe- strahlung	nach prä- operativer Kurzzeitbe- strahlung	nach prä- operativer Langzeitbe- strahlung
Anzahl der untersuchten Tumoren	5	6	4
Markie- rungsindex	1,819 ± 1,169 =====	0,311 ± 0,238 =====	0,660 ± 0,312 =====

Tab. 4: Durchschnitt der Mittelwerte des ^3H -Thymidin-Markierungsindex bei Kurzinkubation von Nierenkarzinomgewebe mit Angabe der Standardabweichung.

Einen graphischen Überblick über die unterschiedlichen Ergebnisse zeigt Abb. 4.

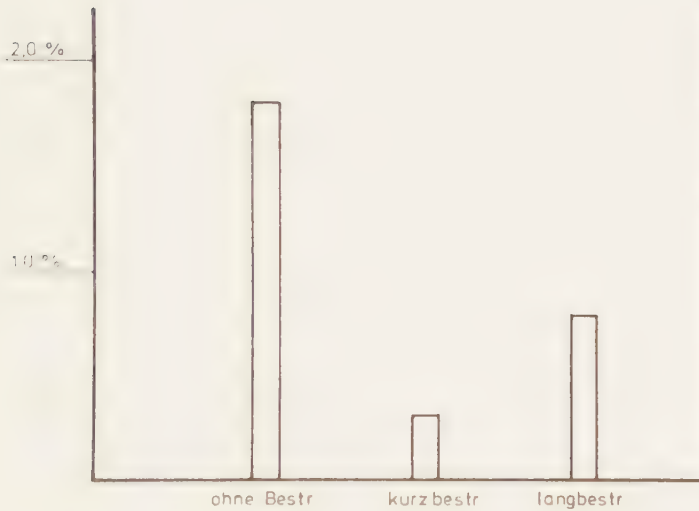


Abb. 4: Graphische Darstellung des Durchschnittes der Mittelwerte der ^3H -Thymidin-Markierungsindices bei Kurzinkubation von Nierenkarzinomgewebe.

Diese Ergebnisse beweisen, daß die Zahl der markierten Zellen bei den kurzzeitig vorbestrahlten Patienten am geringsten ist. Bei den kurzzeitig vorbestrahlten Patienten sinkt der Durchschnitt des mittleren Markierungsindex auf ein Sechstel und bei den langfristig vorbestrahlten Patienten auf die Hälfte. Wichtig für die Beurteilung ist, daß die einzelnen Karzinome willkürlich für die drei verschiedenen Untersuchungsgruppen ausgewählt wurden und nicht auf Grund klinischer Überlegungen.

Insgesamt lag nur bei einem einzigen vorbestrahlten Karzinom der Markierungsindex knapp über 1 % (1,050).

Als weitere Untersuchung wurde der Markierungsindex in den verschiedenen Bereichen des Primärtumors bestimmt. Außerdem haben wir den Markierungsindex sowohl in Abhängigkeit vom klinischen Verhalten als auch in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad der Tumoren untersucht.

Die Bestimmung des Markierungsindex in peripheren und zentralen Bezirken des Primärtumors ergab für den peripheren Bereich 0,531 % und für den zentralen Bereich 0,582 %. Bei Vergleich der beiden Werte stellt

man nur minimal voneinander abweichende Proliferationsaktivitäten fest. Die intrarenalen Metastasen lassen dagegen mit einem Wert von 1,093 % eine höhere Proliferationsaktivität erkennen. (Tab. 5, Abb. 5)

	Markierungsindex
Zentrale Tumorbezirke	$0,582 \pm 0,051$ =====
Periphere Tumorbezirke	$0,531 \pm 0,422$ =====
Intrarenale Metastasen	$1,093 \pm 0,676$

Tab. 5: Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex in verschiedenen Tumorbezirken der Niere mit Angabe der Standardabweichung.

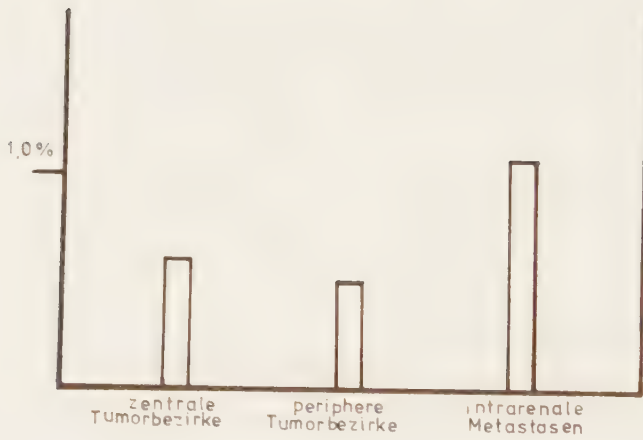


Abb. 5: Graphische Darstellung des mittleren ^3H -Thymidin-Markierungsindex in verschiedenen Tumorbezirken der Niere.

Zu bemerken ist, daß der Markierungsindex für die intrarenalen Metastasen bei kurzzeitig bestrahlten Tumoren nicht über 1,0 % ansteigt, während die langfristig vorbestrahlten Karzinome Werte bis 2,05 % zeigen.

Unabhängig von der Vorbestrahlung wurde noch der Markierungsindex im Hinblick auf die klinische Malignität des Tumors untersucht. Hierbei ergab sich deutlich eine relativ hohe Proliferationsrate bei metastasierenden Karzinomen und bei Tumoren, die infiltrierend über die Nierenkapsel hinauswachsen. Tumoren, die intravasale Einbrüche zeigen, sind nicht durch einen überdurchschnittlich hohen Markierungsindex gekennzeichnet. Karzinome, die keine klinisch manifesten Metastasen aufweisen und Karzinome, die auf die Niere beschränkt sind, zeigen keine überdurchschnittliche Proliferationsaktivität (Tab. 6, Abb. 6).

Klinischer Befund	Fallzahl	Markierungsindex
Tumor ohne Kapsel- durchbruch	1	$0,030 \pm 0,028$
Tumor ohne Metastasen	8	$0,476 \pm 0,352$
Kapseldurchbruch und Infiltration in die Umgebung	2	$1,012 \pm 0,654$
Tumoreinbrüche in Venen	5	$0,395 \pm 0,185$
Nachweis von Fernmetastasen	6	$1,581 \pm 1,192$

Tab. 6: Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex in Abhängigkeit vom klinischen Verhalten des Nierenkarzinoms.

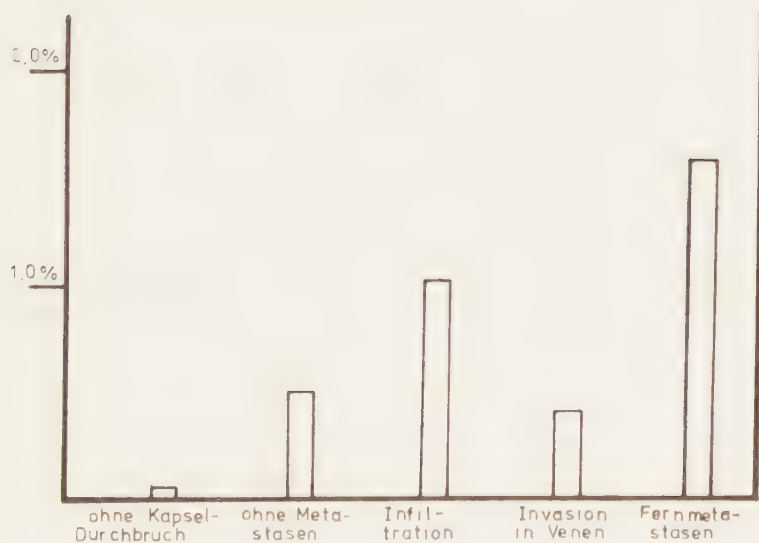


Abb. 6: Graphische Darstellung des mittleren ^3H -Thymidin-Markierungsindex im Hinblick auf das klinische Verhalten des Nierenkarzinoms.

Die Malignität der Tumoren wurde in 4 Differenzierungsgrade eingeteilt und der jeder Gruppe entsprechende Markierungsindex bestimmt. Die Differenzierungsgrade wurden nach der Kern- und Zellpolymorphie festgesetzt (Tab. 7). Die histologischen Untersuchungen wurden von Prof.Dr.P. MEISTER, Pathologisches Institut der Universität München durchgeführt.

Differenzierungsgrad	Zell- und Kernpolymorphie
hoch	geringe Polymorphie
mäßig	mäßige Polymorphie
gering	stärkere Polymorphie
anaplastisch	ausgeprägte Polymorphie mit mehrkernigen Riesenzellen

Tab. 7: Differenzierungsgrad in Bezug auf Zell- und Kernpolymorphie.

Da sich bei vielen Patienten in verschiedenen Bereichen des selben Tumors unterschiedliche Differenzierungsgrade fanden, wurde in solchen Fällen immer der niedrigste Differenzierungsgrad angegeben.

Der Vergleich des Differenzierungsgrades mit dem Markierungsindex ergab einen deutlichen Unterschied zwischen den hochdifferenzierten Tumoren mit 0,464 % und den anaplastischen Tumoren mit 1,355 % (Tab. 8, Abb. 7). Die mäßig und gering differenzierten Tumoren zeigen Markierungsindices, die zwischen diesen Werten liegen.

Differenzierungsgrad	Fallzahl	Markierungsindex
hoch	4	$0,464 \pm 0,295$ =====
mäßig	2	$0,788 \pm 0,371$ =====
gering	2	0,550
anaplastisch	7	$1,355 \pm 1,239$ =====

Abb. 1 Mittlerer ^3H -Thymidin-Markierungsindex im Ver-
hältnis zum Differenzierungsgrad.

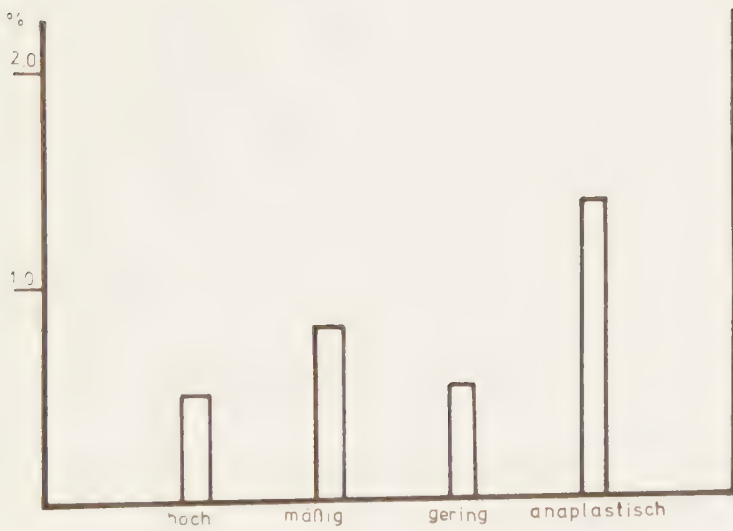


Abb. 7: Mittlerer ^3H -Thymin-Markierungsindex im Vergleich mit dem Differenzierungsgrad in graphischer Darstellung.

F. D I S K U S S I O N

Vor- und Nachteile der Vorbestrahlung von operablen Malignomen werden immer wieder diskutiert. Auch beim Adenokarzinom der Niere wird eine derartig ergänzende Maßnahme von Fachleuten befürwortet. Dabei werden unterschiedliche Behandlungsdosen und Bestrahlungszeiträume sowie unterschiedliche Intervalle zwischen Bestrahlung und nachfolgender Operation besprochen. Eine qualitative und eindeutige Beurteilung solcher klinischer Behandlungen und ihre Ergebnisse waren seither nur schwer möglich. Die autoradiographische Darstellung der Proliferationsaktivität der malignen Zellen ist hierzu augenblicklich die optimale Methode.

Die Aussage unserer Ergebnisse muß aus folgenden Gründen noch mit Vorsicht betrachtet werden:

- 1.) Bis heute liegen noch keine großen Zahlen über ein vergleichbares Krankengut vor, so daß weder die verschiedenen Bestrahlungsarten verglichen werden können, noch die Signifikanz der Behandlungsergebnisse bei klinischen Untersuchungen gesichert ist.

- 2.) Die Methode der in vitro-Markierung von schnell proliferierendem Gewebe wird ihrerseits eingeschränkt durch die mehr oder weniger willkürliche und makroskopische Entnahme des Materials. Trotz der großen Zahl ausgewerteter Zellen der Einzeltumoren, können nur begrenzte Geschwulstgebiete erfaßt werden. Dabei kann nicht ausgeschlossen werden, daß von vorübergehend nicht proliferierenden und dabei unmarkierten Karzinomteilen Rückschlüsse auf den ganzen Tumor gezogen werden. Ebenso wie bei nekrotischem Gewebe würden dadurch falsch negative Ergebnisse entstehen.
- 3.) Die Kraft der Aussage ist dann eingeschränkt, wenn entweder der "Background" des markierten Gewebes zu hoch oder die Differenzen der Markierungsindices der einzelnen Präparate stark variieren. Durch eine zu geringe Zahl der ausgewerteten Zellen einzelner Areale kommen weitere Fehler zustande.

4.) Weiterhin zeigen zahlreiche Untersuchungen, daß sich in jedem Tumor nur ein Teil der Zellen im Proliferationsstadium befindet (FEINENDEGEN, 1971, 11). Die Beziehung des relativen Anteils dieser Zellen, der s.g. Wachstumsfraktion, zur Struktur des Tumors, seiner Vaskularisation und Verteilung der Sauerstoffspannung im Tumorgewebe wurde besonders von MENDELSON (1962, 32) betont. Wahrscheinlich befinden sich erhebliche Teile der Zellen einer Geschwulst zum Zeitpunkt der Markierung nicht in Proliferation, treten jedoch später wieder in eine Teilung ein. Es muß also in Betracht gezogen werden, daß ein Teil der Zellen seine Proliferationsfähigkeit beibehalten hat, aber autoradiographisch nach Kurzinkubation nicht markiert ist. Ferner ist zu beachten, daß in manchen Tumoren Zellen auf Grund ihrer schlechten Gefäßversorgung und des geringen Sauerstoffpartialdrucks zeitweilig oder andauernd dem Teilungszyklus entzogen sind. Diese Zellen sind um den Faktor 2 - 3 strahlenresistenter (SZCZEPANSKI, HUG, SPANGENBERG, 1971, 37). Es stellt sich darüber hinaus die Frage, ob die proliferierenden

Zellen eines bestimmten Tumors sämtliche die gleiche Generationszeit haben. FEINENDEGEN (1971, 11) weist darauf hin, daß nicht selten Tochterzellen eines Tumors Generationszeiten aufweisen, die sich von denen der Mutterzellen erheblich unterscheiden. LALA und PATT (1966, 30) zeigten, daß der Markierungsindex eines Tumors sowohl bei Zunahme der Wachstumsfraktion als auch bei Verkürzung der Zellzykluszeit ansteigt. So kann nur unter der Annahme einer nach Bestrahlung weiterhin unveränderten DNS-Synthese-Dauer der Markierungsindex als Parameter für die Proliferationsaktivität gewertet werden.

- 5.) Die Irritation der Tumorzelle durch die Manipulation während der Operation sowie infolge der Kulturbedingungen könnten im Sinne einer Teilsynchronisation wirken, d.h. die Zellen treten postoperativ nicht sofort in die S-Phase ein, so daß dann während der Inkubationszeit unter günstigen Bedingungen um so mehr Zellen synchron proliferieren. Die Voraussetzung dazu ist eine optimale Inkubation.

Trotz dieser Vorbehalte sind die bisherigen Untersuchungen zumindest als Argument für die Fortsetzung unserer derzeitigen Therapie mit einer ausschließlichen Kurzzeitvorbestrahlung innerhalb von 48 Stunden bei hoher Herddosis zu werten. Der Markierungsindex bei der Kurzzeitvorbestrahlung beträgt nach unseren Ergebnissen die Hälfte dessen der Langzeitvorbestrahlung und ein Sechstel dessen der ohne Bestrahlung Operierten. Als Konsequenz für die Klinik bedeutet dies, daß mit dieser Methode eine Optimierung der Vorbestrahlung von Tumoren herausgearbeitet werden bzw. Erfolg einer Strahlentherapie abgeschätzt werden kann.

Es sei an dieser Stelle betont, daß alle Präparate ohne vorherige Kenntnis der klinischen Daten untersucht wurden.

Die mitgeteilten autoradiographischen Ergebnisse aus klinischen Untersuchungen stimmen auch mit tierexperimentellen Beobachtungen überein, wie bereits angeführt wurde.

Aufgrund unserer Ergebnisse sollte die Vorbestrahlung im Rahmen der Nierentumorbehandlung auf alle Fälle fortgeführt werden, wobei die Kurzzeitvorbestrahlung aufgrund unserer autoradiographischen Resultate am erfolgversprechendsten ist. Als notwendige Ergänzung und als Kontrolle der autoradiographischen Untersuchung ist ein späterer Vergleich mit den eigenen klinischen Resultaten erforderlich.

G. Z U S A M M E N F A S S U N G

Bei 15 Nierenkarzinomkranken im Alter zwischen 30 - 70 Jahren wurde die Proliferationsaktivität der Tumorzellen nach verschiedenartiger Vorbestrahlung sowie ohne Vorbestrahlung mit Hilfe der ^3H -Thymidin-Autoradiographie gemessen. Es wurde unmittelbar postoperativ Tumorgewebe entnommen und in vitro in ^3H -Thymidin-haltigem Nährmedium inkubiert. Anschließend wurde als Maß der Proliferationsaktivität ein Markierungsindex im Autoradiogramm von Schnittpräparaten des inkubierten Tumorgewebes aus verschiedenen Arealen des Tumors bestimmt.

Die Untersuchungen haben folgendes ergeben:

- 1.) Eine quantitative ^3H -Thymidin-Autoradiographie von menschlichem Nierenkarzinomgewebe in vitro ist möglich.
- 2.) Der Markierungsindex wird durch vorherige Bestrahlung des Tumors deutlich beeinflusst.

- 3.) Der Markierungsindex ist am größten bei den unbestrahlten Patienten, beträgt die Hälfte bei der Langzeitvorbestrahlung und ein Sechstel bei der Kurzzeitvorbestrahlung.
- 4.) Die autoradiographischen Untersuchungen wurden mit den klinischen Befunden verglichen: Der Markierungsindex in Gewebspartikeln von Tumoren ohne Metastasen lag unter 0,5, der der Tumoren mit Kapseldurchbruch und Infiltration in die Umgebung bei 1,012 und der mit Fernmetastasen bei 1,581.
- 5.) Die Höhe des Markierungsindex steht in Beziehung zu den histologisch ermittelten Differenzierungsgraden der Tumoren: anaplastische Tumoren weisen den höchsten ^3H -Thymidin-Index auf.

H. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. BASERGA, R.:
The relationship of
the cellcycle to tumor
growth and control
of cell division:
A Review.
Cancer Res. 25, 581
(1965)
2. BASERGA, R., D. MALAMUD:
Modern Methods of Ex-
perimental Pathology-
Autoradiography.
Verlag Harper and Row,
New York, 157 (1969)
3. BERGSTRÖM, S., M. LINDGREN:
Preoperativ Roentgen-
therapy of Cancer of
the breast.
Acta radiol. 58, 9
(1962)
4. BLOOM, H.J.G.:
Adjuvant Therapy for
Adenocarcinoma of the
Kidney: Present Position
and Prospects.
Brit. J. Urol. 45,
237 (1973)
5. BOYD, G.A.:
Autoradiography in
Biology and Medicine.
Academic Press,
New York (1955)
6. BRATHERTON, D.G.:
The place of radio-
therapy in the treat-
ment of hypernephroma.
Brit. J. Radiol. 37,
141 (1964)

7. BROSIG, W., H. BAUMGÄRTEL,
H. OESER:
Die präoperative Be-
strahlung der Nieren-
tumoren aus chirurgisch-
urologischer Sicht.
Präoperative Tumorbe-
strahlung, Vorträge
vom Deutschen Röntgen-
kongreß 1970, Urban
& Schwarzenberg,
München - Berlin - Wien,
84 (1971)
8. BRÜHL, P., W. SCHEEF,
H. ALBERT, E. BÜCHELER:
Deutsches Ärzteblatt,
41, 2919 (1974)
9. COX, C.E., S.S. LACY,
W.G. MONTGOMERY, W.H. BOYCE:
The Journal of Urology,
104 (1970)
10. FAUL, P., H. RABES:
Die zytologische Diagnose
des Prostatakarzinoms
und seine verschiede-
nen Malignitätsgrade.
Urologe A 11 , 299 (1972)
11. FEINENDEGEN, L.D.:
Autoradiographische
und biochemische Un-
tersuchungen der Zell-
proliferation in vivo.
Vorträge vom Deutschen
Röntgenkongreß 1970,
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien,
12 (1971)
12. FINNEY, R.:
Der Wert der Radiothe-
rapie in der Behandlung
des Hypernephroms.
Brit. J. Urol. 45,
258 (1973)

13. FITZGERALD, P.J., A. ENGSTROM:
The use of ultra-violet microscopy, roentgen ray absorption and autoradiographic techniques in the study of neoplastic disease.
Cancer 5, 643 (1952)
14. FITZGERALD, P.J. et al.:
Tritium in radioautography.
Science 114, 494 (1951)
15. FLOCKS, R.H., M.C. KADESKY:
The Journal of Urology, Vol. 79, No. 2 (1958)
16. GAUWERKY, F.:
Strahlenbehandlung von Nierentumoren Erwachsener.
Deutsches Ärzteblatt 5, 275 (1973)
17. GROSS, J., C.P. LEBLOND:
Histological localization of radioactive elements. A review.
Mc Gill Med.J. 15, 399 and Canad. Med. Assoc. J. 57, 102 (1947)
18. GERHARDT, P.:
Ergebnisse der Strahlentherapie, besonders der Hochvolttherapie bei Tumoren des Urogenitaltraktes.
Röntgenblatt 19, 120 (1966)
19. HALLWACHS, O., D. BEDUHN, H. HARBST:
Die diagnostische Treffsicherheit der verschiedenen radiologischen Untersuchungsmethoden bei Nierentumoren.
Urologe 8, 138 (1969)

20. HEINZE, H.G.,
B. SCHWÄRZLER:
Kobalt-60-Teletherapie der Nierenschwülste.
Strahlentherapie 141/3,
276 (1971)
21. HELPAP, B., W. MAURER:
Autoradiographische Untersuchung zur Frage der Vergleichbarkeit des Einbaues von markiertem Thymidin unter in vivo Bedingungen und bei Inkubation von Gewebeproben.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 4, 102 (1969)
22. HOWARD, A., S.R. PELC:
Synthesis of DNA in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage.
Heredity (Suppl.) 6,
102 (1957)
23. HUG, O.:
Zytologische Aspekte der Strahlentherapie.
Radiologica Austriaca (Suppl.) 6, 102 (1957)
24. HUG, O.:
Strahlenbiologische Begründung, Methoden und Aussichten einer präoperativen Tumorbestrahlung.
Vorträge vom Deutschen Röntgenkongreß 1970, Urban & Schwarzenberg, München - Berlin - Wien (1971)

25. KLEIN, H.O., K.J.
LENNARTZ, M. EDER,
R. GROSS:
In vitro Verfahren
zur autoradiographi-
schen Bestimmung der
Zellkinetik der Erythro-
blasten bei Tier und
Mensch.
Histochemie 21, 369
(1970)
26. KLEIN, H.O., K.J.
LENNARTZ, R. GROSS,
M. EDER, R. FISCHER:
In vivo und in vitro
Untersuchungen zur
Zellkinetik und zur
Synchronisation mensch-
licher Tumorzellen.
Dtsch.med.Wschr. 97,
1273 (1972)
27. KROKOWSKY, E.H.:
Drei grundsätzlich
verschiedene Vorbe-
strahlungsmodi und
ihre Erfolgsbewertung.
Vorträge vom Deutschen
Röntgenkongreß 1970,
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien
(1971)
28. KUTTIG, H., F. ZUNTER:
Erfahrungen und Behand-
lungsergebnisse nach
konventioneller Röntgen-
und Cobalt-60-Therapie
bösartiger Nieren- und
Nierenbeckentumoren.
Strahlentherapie 136,
138 (1968)
29. LACASSAGNE, A.,
J.S. LATTE:
Methode autohisto-
radiographique pour
la detection dans les
organes du polonium
injecte.
Compt.Rend 178, 488
(1924)

30. LALA, P.K., H.M. PATT: Cytokinetic analysis of tumor growth.
Proc.Natl.Acad.Sci. 56, 1735 (1966)
31. LEAMING, R.H. et al.: Preoperative irradiation in rectal carcinoma.
Radiology 77, 257 (1961)
32. MENDELSON, M.L.: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C_3H mice.
III, The Growth Fraction. J.Natl.Cancer Inst. 28, 1015 (1962)
33. RABES, H., P. FAUL: Bestimmung der Proliferationsaktivität von menschlichen Prostata-punktaten durch 3H -Thymidin-Autoradiographie.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 57 (1973)
34. REICHARD, P., B. ESTEBORN: Utilization of Desoxyribosides in the synthesis of polynucleosides.
J.Biol.Chem. 188, 839 (1951)
35. RICHES, E.: Tumors of the Kidney and Ureter.
Vol.V. Livingstone, Edinburgh London (1964)
36. ROGERS, A.W.: Techniques of Autoradiography.
Elsevier Amsterdam (1967)

37. SZCZEPANSKI, L.V., O. HUG,
G. SPANGENBERG:
Fraktionsstudien an
transplantablen Tier-
tumoren unter zellki-
netischen Aspekten.
Vorträge vom Deutschen
Röntgenkongreß 1970,
Urban & Schwarzenberg,
München - Berlin - Wien
(1971)
38. SCHMIDT, E., H.G.
REINZ:
Nierentumoren, Opera-
tive und strahlenthe-
rapeutische Behandlung.
Münchener Med. Wochen-
schrift 26 (1971)
39. SCHMITZ, W.:
Zur Klinik und The-
rapie der Nierenge-
schwülste.
Urologe 3, 139 (1967)
40. SCHULTZE, B.:
Die Orthologie und
Pathologie des Nuclein-
säure- und Eiweißstoff-
wechsels der Zelle im
Autoradiogramm.
Handbuch der all. Patho-
logie, Springer, Berlin -
Heidelberg - New York
(1968)
41. TAYLOR, J.H., P.S.
WOODS, W.L. HUGHES:
The organization and
duplication of chromo-
somes as revealed by
autoradiographic studies
using tritium labeled
thymidin.
Proc.Natl.Acad.Sci.
43, 122 (1957)

42. VERLY, W.G.,
G. HUNEBELLE:

Preparation of ^3H -
Thymidin.

Bull.Soc.Chim.Belges
66, 640 (1957)

43. ZUPPINGER, A.:

Die Vorbestrahlung.
Einleitende Übersicht.

Vorträge vom Deutschen
Röntgenkongreß 1970,
Urban & Schwarzenberg,
München - Berlin - Wien
(1971)

L e b e n s l a u f

Am 27.3.1946 wurde ich als Tochter des Konditor-
meisters Hans D o n h a u s e r und seiner Ehe-
frau Irmgard, geb. Fallier, in Schwandorf geboren.

1952 Eintritt in die Volksschule in Schwandorf.

1956 bis Januar 1967 Besuch des mathematisch-natur-
wissenschaftlichen Gymnasiums Schwandorf, dort Abitur
1967.

1967 bis 1968 Studium der Tiermedizin in München.

1968 Vorphysikum.

1968 bis 197⁴ Studium der Medizin in München:

1971 Physikum, 197⁴ Staatsexamen an der Ludwig-
Maximilians-Universität.

Februar 1975 bis Mai 1975 Medizinalassistentin an
der Dermatologischen Klinik der Universität München.

Mai 1975 bis September 1975 Medizinalassistentin an
der Chirurgischen Klinik der Universität München.

Herrn Dr. Peter C a r l bin ich für die
Überlassung des Themas und die hilfreiche
Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit
zu herzlichem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr.H. R a b e s möchte ich
für die Anregung zu dieser Arbeit danken,
Herrn Professor Dr.P. M e i s t e r für die
Unterstützung bei der histologischen Unter-
suchung.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn J. AHMERKAMP,
der mir bei der statistischen Ausarbeitung
half.

